



## Purifikasi Antigen Outer Membrane Protein (OMP) Dari Isolat *Salmonella enterica* serovar Typhi

CUT MUTHIADIN

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar  
Jl. Sultan Alauddin 36 Samata, Kab. Gowa 92113  
email: cutmuthia82@gmail.com

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mendapatkan protein murni dari antigen OMP isolat *Salmonella enterica* serovar typhi (*S. typhi*) dengan metode fraksinasi amonium sulfat dan dialisis. Fraksinasi dilakukan dengan variasi konsentrasi amonium sulfat 10–20%; 20–40%; 40–60%, 60–80%, dan 80–100%. Kemudian filtrat dari setiap konsentrasi fraksinasi tersebut dilanjutkan dengan metode dialisis menggunakan membran selofan, kemudian diukur kadar proteinnya dengan metode Lowry. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Kadar protein OMP tertinggi diperoleh sebesar 1, 641 mg/ml yaitu pada konsentrasi 20–40%.

Kata Kunci: Antigen OMP, kadar protein, purifikasi, *S. typhi*

### PENDAHULUAN

Demam tifoid yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella enterica serovar Typhi* (*S. Typhi*) masih menjadi masalah kesehatan utama di dunia terutama di negara berkembang, termasuk Indonesia. Diagnosis demam tifoid berdasarkan pemeriksaan klinis sangat sulit ditegakkan karena gejala dan tanda yang berbeda-beda. Disamping itu gejala yang muncul itu mirip dengan gejala penyakit lainnya seperti malaria dan demam berdarah. Isolasi atau kultur darah masih merupakan diagnosis yang umum digunakan sebagai diagnosis laboratorium. Namun diperlukan waktu yang lama berkisar 2-3 hari, oleh karena diperlukan penegakan diagnosis demam tifoid secara dini dan cepat. Saat ini telah banyak dikembangkan alat imunodiagnostik seperti diantaranya: dipstick, tubex, dri-dot, namun masih memiliki kekurangan berupa sensitivitas dan spesifitas yang rendah serta hasil positif palsu.

Oleh karenanya dilakukan penelitian ini dengan mengisolasi antigen OMP dari darah penderita demam tifoid, kemudian dimurnikan untuk melihat konsentrasi proteinnya, dan selanjutnya akan dilakukan penelitian berkelanjutan yaitu uji protein (antigen OMP) terhadap serum (antibodi) suspek demam tifoid, sehingga diharapkan bisa dikembangkan sebuah alat imunodiagnostik

untuk penegakan diagnosis demam tifoid yang bisa digunakan spesifik di daerah Makassar dan bahkan meluas di Indonesia.

Penelitian ini dilakukan melakukan pemurnian berupa fraksinasi antigen OMP dengan menggunakan garam amonium sulfat. OMP diendapkan dengan mengamengatur konsentrasi amonium sulfat yang berbeda yaitu konsentrasi 20%; 40%; 60%; 80%, dan 100%. Kemudian dilanjutkan dengan metode dialisis. Protein yang diperoleh dari setiap fraksi diuji kadar proteinnya sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya.

### METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2014 di Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Makassar.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat gelas, pipet mikro, penyaring plastik, pisau stainless steel, alat parut stainless steel (Brilliant), mortar, lemari pendingin, freezer, sentrifus dingin (Juan MR 1889), neraca analitik (Mettler Toledo AL 204), pengaduk magnet (*stirer*), pemanas (Janke-Kunkel), oven, kantong selofan 10 x 2 cm, pH-meter (Orion 201), higrometer dan termometer ruang, spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10 UV series).



Bahan yang digunakan antara lain, aquades, VCO, gum arab, alkohol, buffer fosfat. Bahan kimia yang digunakan antara lain  $\text{Ca(OH)}_2$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{KNa-tartrat}$ , dan bovin serum albumin (BSA) yang diperoleh dari Merck.

#### **Isolasi dan Ekstraksi Antigen OMP.**

Pemisahan fraksi OMP dilakukan dengan metode S. Kim *et al* (2006). Sebanyak 6 ose biakan *S. Typhi* dimasukkan kedalam 1 ml medium BHIB dan diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Selanjutnya kultur sel tersebut disentrifugasi pada 15.000 g selama 20 menit pada suhu  $4^\circ\text{C}$ . Peletnya kemudian ditambahkan dengan 10 mmol  $\text{l}^{-1}$  Tris-HCl (pH 8) kemudian disonikasi pada sonikator dengan menggunakan es selama 4 kali selama 5 detik. Selanjutnya disentrifus kembali pada 15.000 g selama 1 jam pada suhu  $4^\circ\text{C}$ . Pelet kembali dipisahkan dan ditambahkan dengan 10 ml dari 10 mmol  $\text{l}^{-1}$  Tris-HCl (pH 8) dan sarcosyl sampai mencapai konsentrasi akhir dari 1.5% (v/v). Setelah didiamkan pada suhu ruangan selama 20 menit, membran yang telah dikumpulkan disentrifugasi kembali pada 15.000 g selama 90 menit pada suhu  $4^\circ\text{C}$ .

**Fraksinasi Antigen OMP.** Fraksinasi enzim lipase dilakukan dengan metode Sana dkk. (2004). Enzim lipase kasar diendapkan menggunakan ammonium sulfat dengan tingkat kejenuhan yang berbeda yaitu 10–20% ; 20–40%; 40–60 %, 60–80 %, dan 80–100 %. Setelah diperoleh endapan, dilanjutkan dengan dialisis.

**Fraksi pertama** adalah enzim lipase yang diendapkan pada tingkat kejenuhan ammonium sulfat 0-20% dengan cara menambahkan 9,40 g ammonium sulfat kedalam 100 ml ekstrak enzim kasar. Kemudian disentrifus dingin pada suhu  $4^\circ\text{C}$ , kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Endapan yang diperoleh dipisahkan dari supernatannya. Endapan dilarutkan dengan 3,0 ml buffer fosfat 0,2 M pH 7 dalam tabung reaksi (fraksi 1).

**Fraksi kedua** diperoleh dari kejenuhan 20-40 %. Tingkat kejenuhan ini diperoleh

dengan menambahkan 8,20 g padatan ammonium sulfat ke dalam supernatan dari fraksi pertama. Kemudian disentrifus dingin pada suhu  $4^\circ\text{C}$ , kecepatan 3000rpm selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh dipisahkan dari endapannya. Endapan dilarutkan dengan 3,0 ml buffer fosfat 0,2 M pH 7 dalam tabung reaksi.

Supernatan dari pengendapan kedua ditambah dengan 9,400 g ammonium sulfat untuk mencapai tingkat kejenuhan ammonium sulfat 40-60%. Kemudian disentrifus seperti sebelumnya untuk memisahkan endapan dari supernatannya. Endapan ini merupakan **fraksi ketiga**.

Supernatan ditambah lagi dengan 9,900 g ammonium sulfat untuk mencapai kejenuhan 60-80 % ammonium sulfat kemudian disentrifuse sehingga diperoleh endapan (**fraksi keempat**) dan seterusnya. Setelah diperoleh endapan (fraksi) dari masing-masing tingkat kejenuhan ammonium sulfat kemudian dilanjutkan dengan dialisis. Endapan dimasukkan dalam kantong selofan kemudian direndam dalam gelas beaker berisi 250 ml buffer fosfat 0,05 M pH 7 dan diaduk perlahan dengan pengaduk magnet. Dialisis dilakukan sampai semua ammonium sulfat terpisah dari endapan protein, dengan penggantian buffer fosfat setiap 6 jam. Setelah melalui proses dialisis, OMP hasil pengendapan diencerkan dengan buffer fosfat 0,05 M pH 7 sampai volumenya tepat 10 ml. Protein OMP hasil fraksinasi diuji kadar proteinnya.

#### **HASIL**

**Fraksinasi Amonium Sulfat.** Penelitian ini menggunakan lima tingkat kejenuhan amonium sulfat yaitu 0-20%, 20-40%, 40-60%, 60-80%, dan 80-100%. Dengan menggunakan standar tabel presipitasi amonium sulfat, ditimbang jumlah (gram) amonium sulfat yang harus ditambahkan ke dalam setiap konsentrasi. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 1



Tabel 1. Jumlah Penambahan Amonium Sulfat untuk setiap tahap Fraksinasi

No	Fraksi Protein	Volume Filtrat (mL)	Jumlah Amonium Amonium Sulfat (g)
1	Ekstrak kasar	500	0
2	0 - 20%	530	58,7
3	20 - 40%	520	61
4	40 - 60%	510	67
5	60 - 80%	500	70
6	80 - 100%	530	80

Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan protein berdasarkan perbedaan kelarutannya dalam air. Penambahan garam amonium sulfat pada konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi pada setiap tingkat fraksi dapat menyebabkan perbedaan jenis protein yang mengendap. Shah dkk., 2010 dan Ahmad dkk., 2013 menyatakan Endapan yang terbentuk dipisahkan dengan cara sentrifugasi pada

10.000 rpm selama 30 menit suhu 4 °C. Endapan yang diperoleh dilarutkan dalam buffer B pH 8,6. Enzim yang diperoleh pada tahap ini adalah enzim semi murni.

**Dialisis.** Proses pemurnian selanjutnya dengan cara dialisis yang menggunakan membran selofan yang akan melewati zat terlarut dengan molekul <10 kDa

Tabel 2. Volume akhir dialisis

No	Fraksi Protein	Volume Filtrat (mL)	Volume akhir (ml)
1	0 - 20%	11	8,6
2	20 - 40%	18	21,8
3	40 - 60%	18,4	18,2
4	60 - 80%	12	13,6
5	80 - 100%	17,4	28

**Kadar Protein.** Setelah dilakukan serangkaian proses pemurnian dengan dialisis, selanjutnya setiap fraksi amonium sulfat tadi

yang telah didialisis diukur kadar proteinnya dengan metode Lowry.

Tabel 3. Kadar Protein Tiap Fraksi Pengendapan Kejenuhan Amonium Sulfat Setelah Dialisis

No	Fraksi Protein	Kadar Protein (mg/mL)
1	Ekstrak kasar	6,878
2	0 - 20%	0,294
3	20 - 40%	1,641
4	40 - 60%	0,965
5	60 - 80%	0,223
6	80 - 100%	0,168

## PEMBAHASAN

Fraksi tertinggi diperoleh pada fraksi 20-40% dengan kadar protein tertinggi sebesar

1,641 mg/ml (tabel 3).. Hal ini sesuai dengan Chaplin 2004 yang menyatakan bahwa protein yang mengandung asam-asam amino



hidrofobik akan mengendap pada konsentrasi garam yang lebih rendah dibandingkan protein yang mengandung asam-asam amino hidrofilik. Hal tersebut dikarenakan pada tingkat kejenuhan garam amonium sulfat 20-40% ion-ion garam amonium sulfat berikatan dengan molekul air, sedangkan protein yang mengandung asam amino hidrofobik paling banyak akan mengendap. Protein dengan asam amino hidrofilik tidak akan mengendap dan berada pada filtrat. Protein yang bersifat lebih hidrofilik akan mengendap jika sudah berada pada tingkat kejenuhan garam tertinggi. Semakin banyak molekul air yang berikatan dengan ion-ion garam akan menyebabkan penarikan molekul air yang mengelilingi permukaan protein. Peristiwa ini mengakibatkan protein saling berinteraksi, teragregasi, dan mengendap (Scopes, 1993). Konsentrasi tinggi juga masih ditemukan pada 40-60% yaitu sebesar 0,965 mg/ml. Konsentrasi protein tertinggi ditemukan pada ekstrak kasar yaitu sebesar 6,878 mg/ml. hal ini disebabkan karena pada ekstrak kasar masih terdapat banyak protein jenis lain yang memiliki aktivitas masing-masing, tetapi setelah diberikan amonium sulfat yang dimulai dengan fraksi 0-20% sampai 80-100%, kadar proteinnya semakin menurun.

## KESIMPULAN

1. Eksraksi OMP dengan menggunakan sarkosil dan sonikasi dapat memisahkan antigen OMP dengan protein-protein lainnya,
2. Kadar protein OMP tertinggi diperoleh sebesar 1,641 mg/ml yaitu pada fraksinasi ammonium sulfat 20-40%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chaplin, M. (2004). Concentration by precipitation. <http://www.lsbu.ac.uk>. [1 Agustus 2007].
- Crump, J. A., S. P. Luby, and E.D. Mintz., 2004. The Global burden of Typhoid fever. *Bull. W. H. O.* 82: 346-353.
- Davidson, V.L. dan Sittman, D.B. (1999). *Biochemistry*, 4th edition, Lipincott

Williams and Wilkins, Maryland, hal.19-21.

- Granner, D.K., Mayes, P.A., Murray, R.K. dan Rodwell, V.W. (2003). *Harper's Illustrated Biochemistry*, 26th edition, Mc Graw-Hill Companies Inc., New Delhi.
- Pui, C. F., Wong, W. C., Chai, L. C., Tunung, R., Jeyaletchumi, P., Noor Hidayah, M. S., Ubong, A., Farinazleen, M. G., Cheah, Y. K. and Son, R. (2011). Review Article ; *Salmonella* : a food borne pathogen. *International Food Research Journal*. 18: 465.
- Hamid, N. and Jain, S. K (2008). Characterization of an outer membrane protein of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium that confers protection against Typhoid. *Clinical and Vaccine Immunology*, 15: 1461-1471.
- C.D.C., W. H. O. (2003). Manual for the Laboratory Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacterial Pathogens of Public Health Importance in the Developing World. 103-110.
- Kim, S., Kim, H., Reuhs, B.L and Mauer L.J. (2006). Differentiation of Outer Membrane Proteins from *Salmonella enterica* serotypes using Fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics. *Journal compilation Microbiology*. 42: 229-234.
- Malik, M., Butchaiah, G., Bansal, M. P., Siddiqui, M.Z. and Bakshi, C.S (1999) Sonicated extracts and outer membrane protein of *Salmonella enteritidis* strains and other *Salmonella* serovars. *Indian J Anim Sci* 69, 788-789.
- Ojanen, T., Helander, I. M., Haahtela, K., Korhonen, T.K. and Laakso, T. (1993). Outer Membrane Proteins and lipopolysaccharides in panthovars of *Xanthomonas campestris*. *Appl Environ Microbiol* 59, 4143-4151.
- Wang, N.S. (2004). Enzyme purification by salt (ammonium sulfate) precipitation, <http://www.glue.umd.edu/~nsw/ench485/lab6a.htm>. [1 Agustus 2007].



## Kadar Asam Fitat Dedak Fermentasi Oleh Bakteri Penghasil Fitase Termotabil Dari Sumber Air Panas Sulili Kabupaten Pinrang Provinsi Sulawesi Selatan

HAFSAN<sup>1</sup>, MUCHLIS RAHMAN<sup>1</sup>, CUT MUTHIADIN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar

Jl. Sultan Alauddin 36 Samata, Kab. Gowa 92113

email: hafsahbio@yahoo.com

### ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan kadar fitat pada dedak fermentasi oleh bakteri penghasil fitase termotabil dari sumber air panas Sulili Pinrang Sulawesi Selatan. Fermentasi dedak dilakukan dengan menggunakan tiga bakteri yang dipilih dari Sulili Pinrang yaitu *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis* dan *Bacillus stearothermophilus*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dan 6 repetiton. Pengukuran kadar fitat dilakukan spektrometri. Hasil yang diperoleh menunjukkan penurunan kadar kontrol fitat. Kadar terendah dari asam fitat ditemukan dalam perlakuan B (menggunakan *B. coagulans* sebagai inokulan) yaitu sebesar 3,841%, turun sebanyak 0.640% dari kandungan fitat kontrol. Sementara perlakuan oleh *B. stearothermophilus*, *B. licheniformis* dan konsorsium masing-masing menunjukkan kadar yang lebih rendah sebanyak 0,584%, 0,327% dan 0,149%.

Kata Kunci: dedak fermentasi, fitase termotabil, kadar fitat

### PENDAHULUAN

Peternakan di Indonesia saat ini sudah mengalami perkembangan yang sangat pesat. Perkembangan tersebut diiringi pula dengan semakin meningkatnya kebutuhan masyarakat akan daging sebagai salah satu sumber protein. Pemenuhan akan daging mempunyai prospek ke depan yang baik, maka ternak yang ideal untuk dikembangkan adalah ternak unggas pedaging. Ayam ras pedaging merupakan jenis ras unggulan hasil persilangan dari bangsa-bangsa ayam yang memiliki produktivitas tinggi, terutama dalam memproduksi daging ayam (Sari 2012, 3).

Dari penafsiran Al-qur'an dan tafsir dari Quraish Shihab, maka patutlah kita sadari bersama bahwa setiap makhluk hidup yang diciptakan memiliki kelebihan masing-masing dan dari setiap makhluk hidup yang diciptakan itu mampu menghasilkan makanan untuk makhluk hidup yang lain.

Pakan merupakan hal yang sangat penting dalam dunia ternak ayam pedaging baik secara semi intensif maupun intensif. Biaya pakan dalam peternakan ayam pedaging jika dilihat dari total biaya produksi peternakan komersial menempati sedikitnya 70% dari total biaya produksi. Salah satu alternatif untuk

menurunkan biaya produksi adalah dengan menggunakan bekatul sebagai salah satu bahan baku pakan ternak ayam pedaging. Dedak merupakan hasil samping pertanian yang diperoleh melalui penggilingan dan penyisihan. Dedak juga memiliki serat kasar tinggi yang menyebabkan pencernaan dedak rendah (Sari *et al* 2012, 4).

Dedak merupakan hasil ikutan proses pemecahan kulit gabah, yang terdiri atas lapisan kutikula sebelah luar, hancuran sekam dan sebagian kecil lembaga yang masih tinggi kandungan protein, vitamin, dan mineral. Menurut Schalbroeck (2001) dedak dapat dipakai sebagai bahan pakan ternak, dimana dedak mengandung protein (13,6%) dan lemak (13%) proses fermentasi adalah sebagai substrat dan pengikat sehingga bentuk produk hasil fermentasi akan menarik, disamping itu penambahan dedak dalam substrat akan dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan perkembangannya, sehingga menyebabkan mikroba cepat tumbuh dan mudah berkembang biak. serta serat kasar (12%). Selanjutnya Gunawan (1975) menyatakan bahwa fungsi dedak dalam proses fermentasi adalah sebagai substrat dan pengikat sehingga bentuk produk





hasil fermentasi akan menarik, disamping itu penambahan dedak dalam substrat akan dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan perkembangannya, sehingga menyebabkan mikroba cepat tumbuh dan mudah berkembang (Rusli 2011, 6).

Anggorodi (1994) menyatakan serat kasar adalah bagian dari bahan makanan yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa, lignin, polisakarida lain yang berfungsi sebagai pelindung tumbuh-tumbuhan. Kualitas dedak dapat ditingkatkan melalui upaya pengolahan. Salah satu cara pengolahan dedak adalah melalui proses fermentasi, yang akan memecah serat kasar menjadi produk yang dapat dicerna oleh ternak serta dapat meningkatkan kandungan protein kasar (Sari *et al* 2012, 4).

Piliang, (1982) melaporkan bahwa ayam yang diberikan dedak padi sebanyak 81,5% dalam ransum memberikan produksi telur lebih rendah dibandingkan dengan ayam yang diberikan dedak sebanyak 39% atau 19,5% dalam ransum. Rendahnya produksi telur ayam yang diberikan dedak padi mengandung asam fitat dan serat kasar yang cukup tinggi yang dapat menurunkan produksi dan efisiensi penggunaan pakan serta kandungan asam fitat dari dedak padi sangat mengikat beberapa mineral yang ada dalam pakan (Sari 2012, 37).

Penambahan enzim fitase merupakan salah satu cara untuk mengatasi tingginya asam fitat dalam ransum, karena enzim fitase mempunyai kemampuan menghidrolisa asam fitat yang terkandung pada bahan pakan menjadi senyawa inositol dan glukosa serta senyawa fosfor organik. Senyawa-senyawa ini sangat berperan dalam proses respirasi untuk pembantu ATP. Hal ini didukung oleh pendapat Ravindra *et al.* (2000) melaporkan bahwa penambahan enzim fitase sebesar 750 FTU/kg menghasilkan pencernaan fosfor yang tinggi dibandingkan penambahan dibawah 500 FTU/kg ransum (Sari *et al* 2012, 37).

Asam fitat dapat menyebabkan ketersediaan fosfor menjadi rendah sehingga pertumbuhan tertunda dan efisiensi pakan menurun. Asam fitat atau fitin pada dedak

mencapai 89,9% yang membentuk ikatan kompleks dengan beberapa mineral seperti seng, kalium, zat besi dan magnesium. Fitat merupakan suatu senyawa yang tidak dapat larut sehingga sangat sukar dicerna dan tidak dapat dimanfaatkan oleh tubuh. Di samping itu fitat juga mempunyai sifat sebagai chelating agent terutama terhadap ion-ion bervalensi dua seperti Ca, Fe dan Zn mengakibatkan ketersediaan biologik mineral-mineral tersebut rendah (Irianingrum 2009, 20).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar fitat pada dedak fermentasi oleh berbagai bakteri penghasil fitase termotabil dari sumber air panas sulili Kabupaten Pinrang Provinsi Sulawesi Selatan. Sehingga asam fitat/anti nutrisi pada dedak yang mengikat nutrisi di ransum tersebut dapat dipecah dan ternak dapat menyerap nutrisi secara maksimal.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada 5 perlakuan dan 6 ulangan. Dedak padi yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil ikutan penggilingan padi berupa serbuk halus yang diperoleh dari pabrik penggilingan gabah. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni hingga Agustus 2013. Lokasi penelitian laboratorium Biologi bagian Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi dan rak tabung, labu erlenmeyer, labu takar, oven, corong, gelas ukur, gelas piala, pipet tetes, pipet volum dan mikro, spoit, box es, ultra sentrifuge, neraca elektrik, jarum inokulasi (ose), bunsen, aluminium foil, kapas, lemari pendingin, termometer, vorteks, kompor, kukusan, kantong polyetilene,

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya: dedak, inokulum bakteri penghasil fitase termotabil, air,  $\text{HNO}_3$  0.5 M, larutan  $\text{FeCl}_3$ , Amyl alcohol, Larutan Amonium Thiosianat 10%, natrium asam fitat. **Fermentasi dedak oleh isolat bakteri penghasil fitase.** Fermentasi dedak padi oleh

isolat bakteri penghasil fitase yang dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: dedak padi ditambah air sebanyak 50% (volume/berat) kemudian diaduk secara merata, lalu dikukus selama 45 menit dihitung sejak air kukusan mendidih. Setelah dikukus dedak padi didinginkan kemudian diinokulasi dengan inokulum isolat bakteri penghasil fitase pada dosis 10% dari berat dedak padi yang akan difermentasi. Selanjutnya dedak padi tersebut dimasukkan ke dalam kantung-kantung polyetilene yang telah dilubangi di beberapa tempat untuk mendapatkan kondisi aerob, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 3 hari, selama inkubasi substrat dikondisikan pada ketebalan 2 cm. Setelah masa inkubasi selesai, dedak fermentasi tersebut kemudian diukur kadar fitatnya sesuai metode Davies & Reid.

**Pengukuran Kadar Fitat.** Pengukuran kadar fitat dedak dilakukan sebelum dan sesudah dilakukan fermentasi. Satu gram dedak disuspensikan dalam 50 ml larutan  $\text{HNO}_3$  0,5 M dan diaduk selama 3 jam diatas *Shaker* pada suhu  $60^\circ\text{C}$ , kemudian disaring. Dimasukkan kedalam tabung reaksi 0,05 ml filtrat dan 0,45 ml aquades. Kemudian ditambahkan 0,9 ml larutan  $\text{HNO}_3$  0,5 M serta 1 ml larutan larutan  $\text{FeCl}_3$ . Tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan direndam dalam air mendidih selama 20 menit. Setelah didinginkan sampai mencapai suhu ruang, ditambahkan 5 ml Amyl alkohol dan 0,1 ml Larutan Amonium Thiosianat 10%. Isi tabung diaduk dengan cara menggoyangkan tabung

tersebut tepat 15 menit, setelah itu diukur di spektrofotometer dengan panjang gelombang 460 nm. Pada saat yang bersamaan dilakukan juga pengukuran terhadap standar. Standar yang diukur kemudian dibuat kurva hubungan antara jumlah asam fitat dengan absorbansi natrium fitat dengan persamaan umum regresi linier:

$$Y = a + bx$$

Y = absorbansi larutan natrium asam fitat

x = jumlah asam fitat dalam larutan natrium asam fitat

Persamaan yang diperoleh tersebut digunakan untuk menghitung jumlah asam fitat dalam bahan makanan yang telah diukur absorbansinya pada tahap pengukuran Absorbansi Filtrat.

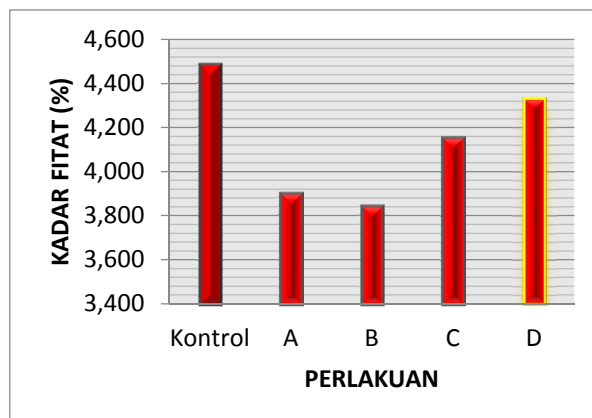
## HASIL

Tiga dari lima isolat yang berhasil diisolasi dengan indeks fitatik (IF) tertinggi dipilih sebagai isolat unggul. Isolat *Bacillus licheniformis* memiliki indeks fitatik 3,57; isolat *Bacillus stearothermophilus* 3,06; dan isolat *Bacillus coagulans* 2,39. Ketiga isolat terpilih masing-masing diidentifikasi berdasarkan pada pengamatan secara manual yang meliputi pengamatan morfologi, fisiologi dan biokimia bakteri. (Ilham, 36. 2013).

Kadar asam fitat yang terkandung dalam dedak padi fermentasi oleh bakteri termofilik dari sumber air panas Sulili kabupaten Pinrang ditampilkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Kadar asam fitat dedak padi fermentasi oleh bakteri termofilik dari sumber air panas Sulili kabupaten Pinrang

Perlakuan	Kadar fitat (%)						Jumlah	Rerata
	1	2	3	4	5	6		
Kontrol	4,745	4,855	4,511	4,639	4,203	3,937	26,890	4,481
A	4,070	4,162	3,769	3,778	3,678	3,927	23,384	3,897
B	3,414	3,184	4,787	4,347	3,695	3,621	23,048	3,841
C	4,949	3,421	4,010	4,315	3,951	4,281	24,927	4,154
D	4,502	3,586	4,052	4,759	4,389	4,709	25,997	4,332



Grafik. 4.1. Kadar asam fitat dedak padi fermentasi oleh bakteri termofilik dari sumber air panas Sulili kabupaten Pinrang Ket:

A = Fermentasi oleh inokulan *Bacillus licheniformis*  
B = Fermentasi oleh inokulan *Bacillus coagulans*  
C = Fermentasi oleh inokulan *Bacillus stearothermophilus*  
D = Fermentasi oleh Konsorsium 3 inokulan

## PEMBAHASAN

Kandungan asam fitat dari fermentasi dedak di setiap perlakuan dalam penelitian ini menunjukkan penurunan dibandingkan Kontrol. Kadar asam fitat terendah terdapat pada perlakuan B (penggunaan *Bacillus coagulans* sebagai inokulan) yaitu 3.841%, turun sebanyak 0,640% dari kadar fitat kontrol. Sementara perlakuan A, C dan D masing-masing menurunkan kadar fitat sebanyak 0.584%, 0.327% dan 0.149%. Tingginya kemampuan *B. coagulans* dibanding inokulan lainnya dapat dipengaruhi oleh sifat *B. coagulans* yang mampu menghasilkan bakteri asam laktat. Sifat demikian membuat pH substrat dalam hal ini dedak menjadi lebih asam sehingga ikatan asam fitat mudah terputus.

Berdasarkan analisis varian satu arah ( $P < 0,05$ ) yang dilakukan terhadap data kadar fitat yang diperoleh, menunjukkan perbedaan yang tidak nyata antara perlakuan dan kontrol. Hal ini berarti perbedaan bakteri inokulan dalam proses fermentasi tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar fitat dedak fermentasi yang dihasilkan. Meskipun secara deskriptif terlihat perbedaan antara masing-masing perlakuan.

Kecilnya perbedaan kadar fitat dedak fermentasi yang disajikan pada Tabel 4.1 dan Gambar 4.1 dapat disebabkan oleh berbagai

faktor, misalnya dikarenakan masa penyimpanan yang masih kurang, karena menurut Hanafi (2008), semakin lama masa fermentasi, akan menurunkan pH dalam dedak. Sehingga semakin banyak ikatan asam fitat yang terputus karena asam fitat bersifat labil dalam pH yang rendah. Kondisi asam yang tercipta dalam keadaan anaerob akan berpengaruh dalam penurunan komposisi asam fitat.

Penurunan kandungan asam fitat pada dedak padi selama penyimpanan umumnya disebabkan adanya enzim 6- fitase yang terdapat dalam dedak padi. Enzim tersebut memulai defosforilasi asam fitat pada posisi ke-6 sehingga terjadi pemutusan ikatan fitat yang menyebabkan terjadinya penurunan komposisi asam fitat pada dedak. Bakteri inokulan pada fase ini menjadi bakteri dominan dengan pH dedak sekitar 3,8 sampai 5. Tahapan ketiga merupakan fase stabilisasi, fase ini merupakan kelanjutan dari fase kedua. Tahapan keempat merupakan fase feed-out atau fase aerobik. Dedak fermentasi yang sudah terbuka dan kontak langsung dengan lingkungan maka akan menjadikan proses aerobik terjadi. Hal yang sama terjadi jika terjadi kebocoran pada kantong maka akan terjadi penurunan kualitas dedak atau kerusakan dedak. Kualitas dedak fermentasi tergantung dari kecepatan fermentasi





membentuk asam, sehingga dalam pembuatan dedak fermentasi terdapat beberapa bahan tambahan yang biasa diistilahkan sebagai additive silage. Penambahan bakteri asam laktat ataupun kombinasi dari beberapa additive silage merupakan perlakuan yang sering dilakukan dalam pembuatan dedak.

Pemilihan bakteri inokulan sangat penting dalam proses fermentasi untuk menghasilkan dedak fermentasi yang berkualitas baik. Proses awal dalam fermentasi dedak adalah proses aerob, udara yang berasal dari lingkungan atau pun yang berasal dari hijauan menjadikan reaksi aerob terjadi. Hasil reaksi aerob yang terjadi pada fase awal fermentasi dedak menghasilkan asam lemak volatile, yang menjadikan pH turun. pH yang menjadikan pertumbuhan bakteri-bakteri aerob menjadi terhambat dan mati serta mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat untuk memproduksi asam laktat. Asam laktat akan terus diproduksi sampai mencapai puncaknya jika pH lingkungan fermentasi sekitar 3,8 sampai 4.

## KESIMPULAN

Berdasarkan analisis varian satu arah ( $P < 0,05$ ) yang dilakukan terhadap data kadar fitat yang diperoleh, menunjukkan perbedaan yang tidak nyata antara perlakuan dan kontrol. Secara deskriptif terlihat perbedaan antara masing-masing perlakuan, kadar asam fitat terendah terdapat pada perlakuan B (penggunaan *Bacillus coagulans* sebagai inokulan) yaitu 3.841%, turun sebanyak 0,640% dari kadar fitat kontrol. Sementara perlakuan A (inokulan *Bacillus licheniformis*), C (inokulan *Bacillus stearothermophilus*) dan D (konsorsium inokulan A,B dan C) masing-masing menurunkan kadar fitat sebanyak 0.584%, 0.327% dan 0.149%.

## DAFTAR PUSTAKA

Anggorodi, R. 1994. Ilmu Makanan Ternak Dasar. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.  
Irianingrum, Retno. 2009. *Kandungan Asam Fitat Dan Kualitas Dedak Padi Yang Disimpan Dalam Keadaan Anaerob.*

Skripsi. Departemen Ilmu Nutrisi Dan Teknologi Pakan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

Piliang, W. G, D Sastradipradja dan W, Manula 1982. Pengaruh penambahan berbagai tingkat kadar Zn dalam ransum yang mengandung dedak padi terhadap penampilan serta metabolisme Zn pada ayam-ayam petelur. Laporan Penelitian. Ditektorat Pembinaan penelitian dan pengabdian pada masyarakat. Direktorat jendral pendidikan tinggi departemen pendidikan dan kebudayaan.

Rusli, Kurniawan, Ridho. 2011. *Pemberian Campuran Dedak Dan Ampas Tahu Fermentasi Dengan Monascus purpureus Terhadap Performa Dan Kualitas Telur Ayam.* Tesis. Program Studi Ilmu Peternakan Pasca Sarjana Universitas Andalas. Padang.

Santoso, B dan B.Tj. Hariadi, 2008. Komposisi kimia, degradasi nutrien dan produksi gas metana in vitro rumput tropik yang diawetkan dengan metode silase dan hay. Jurnal Media Peternakan. 31 (2) : 81-154.

Sari, Kartika, Dian. 2012. *Potensi Fermentasi Bekatul Dengan Bakteri Enterobacter cloacae WPL 111 Terhadap Kecernaan Serat Kasar Dan Protein Kasar Pada Ayam Pedaging.* Artikel Ilmiah. Fakultas Kedokteran Hewan UNAIR

Sari, Liana, Meisji, F. Gurki N Ginting. 2012. *Pengaruh Penambahan Enzim Fitase Pada Ransum Terhadap Berat Relatif Organ pencernaan Ayam Broiler Vol (12) No.2 : 37-41.* Artikel. Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya. Palembang.

Wahyuni, S,H.S. Suprpti, J. Wahyu, D.Sugandi, D.J.Samosir, N.R. Anwar, A.A. Mattjik, B. Tangenjaya. 2008. *Implementasi Dedak Padi Terfermentasi Oleh Aspergillus ficuum Dan Pengaruhnya Terhadap Kualitas Ransum Serta Performans Produksi Ayam Petelur.* Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran Kampus Jatinangor-Sumedang. Bogor.